



**COM-23** 

# La apariencia importa; impacto de la alteración fenotípica en gallinas de puesta

I. CAMPDERRICH<sup>1</sup>, G. LISTE<sup>1</sup> e I. ESTEVEZ<sup>12\*</sup>

<sup>1</sup>Neiker-Tecnalia, Departamento de Producción Animal, P.O. Box 46, 01080 Vitoria-Gasteiz; <sup>2</sup>IKERBASQUE, Fundación Vasca para la Ciencia, María Díaz de Haro 3, 6°, 48013 Bilbao. \*email: icampderrich@neiker.eus

En este estudio evaluamos el impacto de la diversidad fenotípica y del tamaño de grupo sobre las relaciones agresivas en gallinas ponedoras (Hy-Line Brown). Para ello se distribuyeron 1.150 pollitas de un día en 45 corrales, en tres tamaños de grupo (TG): 10, 20 o 40. El grado de diversidad fenotípica (GDF) de los grupos fue experimentalmente modificado mediante la tinción de las plumas de la parte posterior de la cabeza (Marca: M) del 0, 30, 50, 70 o 100% de las pollitas a su llegada a la nave experimental, manteniéndose en estas condiciones hasta la semana 33 (To). A las 34 (T1), 38 (T2) y 44 (T3) semanas, los grupos inicialmente homogéneos (0M y 100M) fueron progresivamente marcados o desmarcados modificándose secuencialmente el GDF en un 30, 50 o 70% del grupo. Los grupos inicialmente heterogéneos (30, 50 y 70%M) permanecieron sin cambios (grupos control). La toma de datos se realizó durante las dos semanas posteriores a la manipulación del fenotipo, calculándose la tasa media de agresión por individuo y recinto. No se encontraron efectos de TG y GDF sobre la tasa de agresión durante la fase previa a la manipulación del fenotipo (semanas 27-28, To, P>0.05). Por el contrario, la introducción cambios en el GDF en grupos inicialmente homogéneos provocó un aumento de la agresión, en T1 (30 %), T2 (50%) y T3 (70% cambiados), (P<0.05). Aunque el efecto del GDF persistió en T1, T2 y T3 los valores de agresión en las poblaciones alteradas fueron disminuyendo hasta alcanzar niveles de agresión próximos a los originales en T3. Asimismo, en T3 se detectó un efecto del TG (P<0.05) con valores significativamente más altos en los grupos de 40 en comparación a los de 10 (p<0.05). Los resultados de este estudio evidencian que pese a la estabilidad social de los grupos y el TG (10 a 40 en este estudio), simples cambios en la apariencia fenotípica de los individuos en edad adulta pueden provocar serios problemas de agresión dirigida que afectan a la producción y el bienestar de las aves. Mecanismos de divergencia fenotípica podría ayudar a explicar la agresión que se dirige hacia animales enfermos, heridos o de apariencia fenotípica diferente debido a otros factores.

In this study we assessed the impact of phenotypic diversity and group size on aggressive interactions in laying hens (Hy-Line Brown). For the study 1,150 day-old chicks were randomly distributed in 45 pens, at three different group sizes (GS): 10, 20 or 40. The degree of phenotypic diversity (DPD) in these groups was modified by staining the feathers of the back of the head (marked: M) from the 0, 30, 50, 70 or 100% of the pullets, chicks were maintained in these conditions until week 33 (To). At 34 (T1), 38 (T2) and 44 (T3) weeks, the DPD from initially homogeneous groups (0M and 100M) was progressively modified by marking or unmarking sequentially 30, 50 or 70 % of the group. Originally heterogeneous groups (30, 50 and 70% M)





remained unchanged (control group). Data collection was conducted two weeks after phenotype manipulation from which the mean rate of aggression by individual and pen were calculated. No effects on GS and DPD over aggression rates were found before the manipulation of the phenotype (weeks 27-28, To, P> 0.05). However, the introduction of changes on the DPD in homogeneous groups led to increased aggression at T1 (30%), T2 (50%) and T3 (70% changed), (P <0.05). Although the effect of the DPD persisted over T1, T2 and T3 values of aggression in altered populations declined progressively till reach levels close to original at T3. Moreover, at T3 an effect of GS was detected (P <0.05) with groups of 40 showing higher values of aggression compared to 10 (p <0.05). The results of this study show that despite of the social stability of the groups and GS (10-40 in this study), simple changes in phenotypic appearance of individuals during adulthood can cause serious problems directed aggression affecting production and welfare of the birds. Mechanisms of phenotypic divergence could help explain the aggression that is directed to sick, injured or animals that present specific phenotypic appearance due to other factors.

Palabras clave: gallinas ponedoras; organización social; tamaño de grupo; apariencia fenotípica; plasticidad

#### Introducción

Uno de los problemas de manejo al que se tiene que enfrentar el sector avícola es la aparición y el control de comportamientos no deseados tales como la agresión, el picaje de plumas y el canibalismo. Estos problemas son más difíciles de controlar en los sistemas de producción 'alternativos' y jaulas enriquecidas ya que las aves disponen de una mayor libertad comportamental (Appleby y Hughes, 1991), lo que a su vez genera mayores oportunidades para su desarrollo. Estos comportamientos no deseados que podían ser más fácilmente controlados en los sistemas de jaulas convencionales ya que solían mantenerse aislados afectando solamente una jaula o pocas jaulas vecinas son más difíciles de controlar en los sistemas alternativos, donde el número de individuos con posibilidad de interactuar es mayor. Asimismo, otros problemas que han sido asociados al hecho de mantener juntos un mayor número de individuos son el incremento de la mortalidad, mayores reacciones de miedo y estrés, daños en plumas y piel, bajada del peso corporal y una reducción en la puesta (Hughes y Duncan, 1972; Tauson, 1998; Bilcik y Keeling, 2000; Keeling et al., 2003). Inicialmente, se sugirió que estos efectos negativos debidos al aumento del tamaño de grupo podrían estar relacionados con problemas para establecer un sistema jerárquico en grupos grandes (McBride y Foenander, 1962). No obstante, estudios posteriores reportaron tasas muy bajas de agresión en grupos grandes de gallinas de puesta (Hughes et al., 1997; Nicol et al., 1999; Estevez et al., 2002) lo que sugirió que en estos casos el sistema jerárquico era substituido por un sistema de tolerancia caracterizado por niveles muy bajos de agresión (Estevez et al., 1997). Esto a su vez, indica que es importante conocer la organización social que desarrollan las gallinas en los distintos tamaños de grupo con el fin de poder predecir que grupos funcionan mejor y desarrollan menos problemas comportamentales, optimizando así los sistemas de producción y evitar riesgos que pueden suponer una pérdida productiva.

Otro factor a tener en cuenta es que normalmente la agresión (así como otros comportamientos no deseados como el picaje o el canibalismo) no se desarrolla al azar entre los miembros del grupo sino que suele estar dirigida hacia subordinados (McBride, 1960; Guhl, 1953; Queiroz y Cromberg, 2006) o individuos con determinados rasgos fenotípicos poco frecuentes en la población. De este modo, se ha observado que aves con un tamaño corporal o de cresta pequeño o con variaciones en la coloración





del plumaje tienen un mayor riesgo de ser víctimas de ataques (Cloutier y Newberry 2002; Dennis et al. 2008). Asimismo, cuanto menor es la proporción de gallinas que muestran un fenotipo distinto mayor parece ser la intensidad en la direccionalidad de la agresión (Dennis et al. 2008).

El objetivo del presente estudio es determinar si cambios en el aspecto fenotípico de las gallinas de puesta (Hy-Line Brown) pueden afectar la tasa de agresión y consecuentemente provocar cambios en la organización social. Asimismo pretendemos determinar si estos efectos son dependientes del número de individuos que presentan un mismo fenotipo en la población o del tamaño del grupo. Para ello criamos pollos en diversos tamaños de grupo (TG: 10, 20 o 40 individuos) y distinto grado de diversidad fenotípica (GDF: 0, 30, 50, 70, 100% de los individuos marcados). Las aves se mantuvieron en estos tratamientos desde día 1 y hasta que alcanzaron las 33 semanas de edad. Durante esta primera etapa nos centramos en determinar si grupos que habían sido criados en distintos TG y GDF diferían en cuanto a la tasa de agresión. La idea era crear grupos con distinto grado de heterogeneidad para determinar la peligrosidad en cuanto a la aparición de comportamientos no deseados de tener lotes heterogéneos.

Por otro lado, la segunda fase de estudio consistió en introducir cambios en el GDF de poblaciones originalmente homogéneas (0 y 100 marcadas) con el fin de determinar cómo cambios secuenciales en la composición fenotípica de los grupos pueden afectar la organización social de un grupo estable. En este caso, pretendíamos estudiar si cambios en el entorno social debidos, por ejemplo, a diferencias en la tasa de maduración o ingesta de alimento, que modificarían el fenotipo de algunos individuos en el grupo, pueden crear problemas de agresividad dirigida.

## Materiales y métodos

El presente estudio fue desarrollado en la nave experimental de avicultura de Neiker-Tecnalia (Vitoria-Gasteiz, Álava). Para su realización 1.050 pollitas de un día de edad (Hy-line brown) fueron aleatoriamente asignadas a uno de los 45 recintos experimentales en grupos de 10, 20 o 40 individuos (densidad constante 8 aves/m²). Los recintos fueron construidos con tubos de PVC y rejilla plástica. De acuerdo con la legislación vigente todos los recintos fueron provistos con cuatro centímetros por ave de comedor circular, 1 tetina para cada cinco pollitas para el suministro de agua. El suelo de los recintos se cubrió de virutas de madera no tratados (a razón de 3 kg / m²). Asimismo, a las 14 semanas de edad, antes del inicio del período de puesta, se proporcionaron nidales comunales y perchas de acuerdo con la legislación vigente (directiva 1999 / 74 / CE, el Real Decreto 3/2002). Un sistema computarizado de control ambiental permitía regular las condiciones de luz, temperatura y ventilación en la nave durante el desarrollo del experimento siguiendo recomendaciones comerciales.

Cada uno de los 45 recintos experimentales se asignó a uno de los siguientes tratamientos; 0, 30, 50, 70, 100% de la población con alteración del fenotipo mediante la aplicación de una marca negra en la parte posterior de la cabeza (9 réplicas por tratamiento). De este modo se obtuvieron poblaciones fenotípicamente homogéneas con todos los individuos intactos (0%) o con todos los individuos alterados (100%), además de grupos con distinto GDF (30, 50 o 70% marcados, donde coexistían individuos marcados (M) y no marcados (NM) en un mismo recinto). Las pollitas se mantuvieron en estos grupos hasta alcanzar la plena puesta (semanas 1 a 34). La alteración fenotípica de los individuos se realizó el día de llegada de las aves tiñendo la parte posterior de la cabeza con tinte no tóxico. Asimismo, a partir de la semana 34 (T1) se introdujeron cambios secuenciales en la composición fenotípica de las poblaciones originalmente homogéneas (0 y 100% M). La primera alteración consistió en el marcaje o desmarcaje del 30% de los individuos en los grupos homogéneos. De este modo, las poblaciones originalmente 0% M pasaron a ser 30M/70NM mientras que las poblaciones 100%M pasaron a ser 70M/30NM. El marcaje se realizó mediante la aplicación de una marca negra





en la parte posterior de la cabeza, mientras que el desmarcaje se realizó mediante una solución de  $H_2O_2$  a las plumas teñidas previamente (Marín et al 2014). El segundo cambio se realizó a las 38 semanas de edad (T2) cuando además del 30% ya alterado un 20% más de las aves fueron modificadas. En este caso, la composición final de los grupos originalmente homogéneos pasó a ser de 50M/50U en ambos casos. Finalmente, cuando las pollitas alcanzaron la edad de 44 semanas (T3) se realizó la última alteración fenotípica siendo los grupos finales 30U/70M (originalmente 100NM) y 30M/70U (originalmente 100M).

Las observaciones se realizaron durante cuatro periodos de 10 minutos para cada recinto y periodo de estudio registrando: peleas, amenazas, picaje agresivo, persecuciones y saltos de ataque (siguendo el etograma definido en Cornetto et al. 2002). Todas las observaciones se realizaron entre las 8:00 y las 14:00 hr. Los datos fueron recogidos mediante la utilización del software especializado en registro de datos de comportamiento (Noldus Observer v.10.0). Posteriormente se calculó la tasa de agresión total para cada periodo de observación y recinto. La tasa de agresión fue analizada mediante distintos modelos lineales mixtos para cada uno de los periodos de estudio (To, T1, T2 or T3) ya que los grupos control diferían para cada periodo. El TG y el GDF fueron incluidos en los modelos como efectos fijos y el recinto como aleatorio Las diferencias significativas entre los distintos tratamientos fueron determinadas mediante comparaciones post-hoc utilizando el ajuste Tukey. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el software informático SAS v. 9.3 (SAS Institute, Cary, NC, USA).

### Resultados y discusión

Los resultados obtenidos muestran que el GDF inicial aplicado sobre las pollitas el día 1 no tuvo impacto sobre la tasa de agresión observado durante la etapa T0 (p>0.05 Fig. 1a). Los bajos niveles de agresión observados en todos los grupos durante esta primera y la ausencia de efectos del GDF son consistentes con la asignación aleatoria de las aves a los diferentes tratamientos y con un proceso de impronta que podría ocurrir dentro de los grupos heterogéneos. Esto sugiere que las aves incorporarían la variabilidad fenotípica observada en su entorno inicial como algo natural. El proceso de impronta facilita dos rasgos cruciales que determinan la supervivencia de los pollos en la naturaleza: el reconocimiento de los individuos que forman parte del grupo social y su sincronización (Bolhuis y Bateson, 1990; Bolhouis y Miel, 1998), rasgos pueden ser muy importante a la hora de evitar riesgos para la supervivencia tales como la predación.

No obstante, la introducción de cambios en la composición fenotípica de poblaciones originalmente homogéneas provocó un incremento de la tasa de agresión en los grupos (tabla 2; T1, GDF; p<0.0001). De este modo observamos un efecto significativo del GDF siendo los grupos alterados (100M transformados en 70M/30NM y 0%M transformados en 30M/70NM) aquellos en los que se detectó valores más altos de agresión respecto a los grupos control alterados no alterados (30M/70M o 70M/30NM originales). El efecto del GDF persistió durante los periodos T2 y T3 (GDF: p<0.001 y p=0.02 respectivamente, tabla 2). No obstante, mientras que para T2 todos los grupos alterados (100M y 0M convertidos en 50M/50NM) seguían mostrando tasas más elevadas de agresión que sus controles, para T3 solamente los grupos alterados correspondientes al tratamiento 100NM convertidos en 70M/30NM mostraron valores de agresión significativamente superiores que los grupos inalterados con GDF 30M/70NM. Además, un análisis descriptivo de la direccionalidad de agresión mostró que para T1, y T2 la agresión observada en grupos alterados se dirigió de individuos no alterados hacia los individuos recientemente alterados en su apariencia fenotípica (T1: 0% M- transformadas a **30M**/70NM la frecuencia de interacciones de MM 0.31±0.08, MN 0.005±0.005, NM 4.36±0.78, NN 0.15±0.03; 100% - transformadas a 70M/30NM: MM 0.2±0.06, MN 2.91±0.41, NM 0.04±0.02, NN 0.32±0.11; T2: 0% M- transformadas a **50M**/50NM: MM 0.59±0.19 MN 0.03±0.02, NM 2.1±0.35,









NN 0.02±0.01; 100% M transformados a 50M/**50NM**: MM 0.31±0.12, MN 1.19±0.38, NM 0.03±0.02, NN 0.3±0.09; M=marcado, N=no marcado, en negrita se encuentra para cada grupo los individuos alterados).

Estos resultados sugieren que cambios en la apariencia fenotípica de las poblaciones de gallinas, que en la práctica podrían ser debidos a diferencias en las tasas de maduración, enfermedades heridas u otros factores que impliquen un cambio en la apariencia fenotípica podría desencadenar problemas de agresión dirigida hacia dichos individuos. Además, se observa que en general a lo largo de los periodos T1, T2 y T3, la frecuencia de agresiones en grupos originalmente homogéneos disminuye a medida que aumenta el número de animales alterados en el grupo (T1, T2 y T3 con 30%, 50% o 70% individuos alterados, respectivamente). Esta disminución puede deberse a que una vez un nuevo fenotipo aparece en la población y es reconocido por el grupo, por lo que alteraciones posteriores de individuos adicionales no tendrán efecto debido a la habituación. Alternativamente, un mayor número de animales comparten las consecuencias de presentar el nuevo fenotipo lo que a su vez podría diluir su efecto debido que el coste de agredir a los "extraños" incrementa a medida que aumenta la frecuencia de dicho fenotipo (Marin et al 2014). Aunque ambas explicaciones son posibles, lo que parece claro es que, los contextos sociales, así como la experiencia previa son factores que pueden jugar un papel importante en la modulación de la dinámica social en las gallinas de puesta.

Tabla 2. Medias de agresión y error estándar, por tratamiento fenotípico para cada uno de los periodos de estudio

|           | 30M/70NM         | 50M/50NM         | 70M/30NM    | 100NM            | 100M             |
|-----------|------------------|------------------|-------------|------------------|------------------|
| <b>T0</b> | 0.3±0.07a        | 0.19±0.08a       | 0.49±0.13a  | 0.32±0.08a       | 0.2±0.07a        |
| <b>T1</b> | $0.95 \pm 0.08a$ |                  | 1.07±0.13a  | $4.89 \pm 0.77b$ | 3.54±0.37b       |
| <b>T2</b> |                  | $0.48 \pm 0.09a$ |             | $2.82 \pm 0.38b$ | $1.86 \pm 0.43b$ |
| Т3        | 0.43±0.11a       |                  | 1.25±0.28ab | 1.64±0.41b       | 1.22±0.26ab      |

Por otro lado, no se encontraron diferencias en agresión respecto de los TG para el primer periodo estudiado (T0, p>0.05). Esto podría ser debido a el hecho de que tanto si se establece un sistema jerárquico en grupos pequeños o un sistema de tolerancia en grupos mayores, en ambos casos esperaríamos encontrar niveles bajos de agresión durante la edad adulta ya que el sistema jerárquico está ya establecido o los animales no interactúan de forma agresiva debido al coste que esto les supone en un grupo grande. Tampoco se encontraron efectos del TG en los períodos T1 y T2 lo que indicaría que el impacto del GDF tiene efectos similares al menos en los TG utilizados en este estudio. Sin embargo, durante el último cambio si detectamos un efecto del TG sobre la tasa de agresión (p=0.01), siendo los valores para el TG 40 significativamente superiores a los de TG 10( 0.69±0.24, 1.14±0.28, 1.58±0.24(Media±ES) para TG 10,20 y 40 respectivamente. La mayor frecuencia de interacciones agresivas en grupos de 40 en comparación con los de 10 podría sugerir que la modificación del grado de variabilidad fenotípica, dentro de un grupo de gallinas domésticas puede tener efectos algo más duraderos en grupos grandes.





En conclusión, este estudio revela que la manipulación del grado de diversidad fenotípica tiene diferentes consecuencias dependiendo del momento en el que se introduce (vida temprana o la edad adulta), siendo los cambios realizados durante la vida temprana fácilmente integrado a la dinámica social del grupo probablemente debido a fenómenos de impronta. Por otro lado, cambios en el GDF de las poblaciones en edades adultas pueden conllevar graves problemas de agresión dirigida hacia individuos alterados que pueden llegar a afectar a la producción y bienestar de las aves (Marin et al. 2014). Estos mecanismos de divergencia fenotípica podrían llegar a explicar la agresión que reciben animales enfermos, heridos o que muestran una apariencia fenotípica singular debida a otros factores.

#### References

**APPLEBY, M. C. and B. O. HUGHES** (1991) Welfare of laying hens in cages and alternative systems: environmental, physical and behavioural aspects. *World's Poultry Science Journal* **47**: 111-128.

**BILCIK, B. L. and KEELING, J.** (1999) Changes in feather condition in relation to feather pecking and aggressive behaviour in laying hens. *British Poultry Science*. **40**: 444-451.

**BOLHUIS, J. J., and BATESON, P.** (1990) The importance of being first: a primacy effect in filial imprinting. *Animal Behaviour* **40**:472-483.

**BOLHUIS J.J and HONEY R.C.** (1998) Imprinting, learning and development: From behaviour to brain and back. *Trends of Neuroscience*. **21**:306-311.

**CLOUTIER, S and NEWBERRY, R.C.** (2002) Differences in skeletal and ornamental traits between laying hen cannibals, victims and bystanders. *Applied Animal Behaviour Science* **77**:115-126. **CORNETTO, T. L. and I. ESTEVEZ** (2001) Influence of vertical panels on use of space by domestic fowl. *Applied animal Behaviour Science*. **71**: 141-153.

**DENNIS, R. L, R. C. NEWBERRY, H. W. CHENG and I. ESTEVEZ** (2008) Appearance matters: artificial marking alters aggression and stress. *Poultry Science*. **87**: 1939-1946.

**ESTEVEZ, I., L. J. KEELING and R. C. NEWBERRY** (2003) Decreasing aggression with increasing group size in young domestic fowl. *Applied Animal Behaviour Science*. **84**: 213-218.

ESTÉVEZ, I., NEWBERRY, R. and ARIAS DE REYNA, L. (1997) Broiler chickens: a tolerant social system? *Etología*. **5**: 19-29.

**ESTEVEZ, I., NEWBERRY, R. C. y KEELING, L. J.** (2002). Dynamics of aggression in the domestic fowl. *Applied Animal Behaviour Science* **76**, 307-325.

GUHL, A.M. (1953) Social behavior of the domestic fowl. *Technical Bull* 73:1-43.

**HUGHES, B. O. y DUNCAN, I. J. H.** (1972). The influence of strain and environmental factors upon feather pecking and cannibalism in fowls. *British Poultry Science* **13**, 525-547.

HUGHES, B. O., CARMICHAEL, N. L., WALKER, A. W. y GRIGOR, P. N. (1997). Low incidence of aggression in large flocks of laying hens. *Applied Animal Behaviour Science* **54**, 215-234. **KEELING, L. J., ESTÉVEZ, I., NEWBERRY, R. C. and CORREIA, M. G.** (2003) Production-related traits of layers reared in different sized flocks: The concept of problematic intermediate group sizes. *Poultry Science*. **82**: 1393-1396.

MARIN RH, LISTE G, CAMPDERRICH I and ESTEVEZ I. (2014) The impact of phenotypic appearance on body weight and egg production in laying hens: A group size and experience dependent phenomenon. Poultry Science, 93 (7):1623-1635.

MCBRIDE, G. (1960) Poultry Husbandry and the peck order. British Poultry Science 1:65-68.

**MCBRIDE, G. y FOENANDER, F.** (1962). Territorial behaviour in flocks of domestic fowls. *Nature* **194**: 102.





NICOL, C. J., GREGORY, N. G., KNOWLES, T. G., PARKMAN, I. D. y WILKINS, L. J. (1999). Differential effects of increased stocking density, mediated by increased flock size, on feather pecking and aggression in laying hens. *Applied Animal Behaviour Science* **65**: 137–152.

**QUEIROZ, S.A. &CROMBERG V.U.** (2006) Aggressive behaviour in the genus *Gallus sp. Brazilian Journal of Poultry Science* **8**:1-14

**TAUSON, R.** (1998). Health and production in improved cage designs. *Poultry Science***77**: 1820-1827.